昆虫卵黄原蛋白功能多效性：以蜜蜂为例

严 盈，彭 露，万方浩*
（中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100081）

摘要：卵黄原蛋白是昆虫卵黄发生的关键物质。随着 RNA 干扰技术在功能基因研究中的应用和发展，昆虫卵黄原蛋白特别是蜜蜂卵黄原蛋白被发现具有气候适应、激活卵巢、生殖竞争、劳动力分化、行为构建、延长寿命、转化食物等多种功能，因此又被称为多效性蛋白。许多针对蜜蜂卵黄原蛋白功能和调控机制的假说也相继提出，如"交互抑制假说"、"循环反馈机制"、"卵黄原蛋白转化蛋白胨机制"，表明蜜蜂卵黄原蛋白已经由雌虫繁殖过程的一个下游因子上升为高等社会性昆虫主要生命周期的调控子，不仅极大地促进了昆虫社会生物学的研究，对其他具有复杂繁殖行为的昆虫的研究也具有重要的参考意义。针对近年来这一领域相继取得的重大突破，本文以蜜蜂为例介绍了昆虫卵黄原蛋白功能多效性的研究进展，包括卵黄原蛋白的理化性质与分子进化，发生与调控，功能多效性及其研究方法等。

关键词：昆虫；蜜蜂；卵黄原蛋白；理化性质；发生；调控；功能多效性
中图分类号：Q966 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2010)03-0335-14

Pleiotropic functions of insect vitellogenin: With honey bee *Apis mellifera* as an example

YAN Ying, PENG Lu, WAN Fang-Hao* (State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Vitellogenin is the key factor in vitellogenesis in insects. As RNA interference was applied, pleiotropic functions of vitellogenin in honey bee *Apis mellifera* were discovered, including climate adaption, ovary activation, reproductive competition, labor differentiation, behavior formation, life extension and food convertion. Thus, *A. mellifera* vitellogenin was also called "pleiotropic protein". Many theories such as "double repressor hypothesis", "feedback loop mechanism" and "vitellogenin-to-jelly mechanism" were proposed to explain the function and regulation of vitellogenin. All these studies suggested that this protein has been upgraded from a downstream factor in female reproductive physiology to a major life cycle regulator in the highly eusocial honeybees. Studies on vitellogenin in honey bee not only promoted the research in insect sociobiology considerably, but also provided a new aspect to study the insects with complex reproductive behavior. Here research progress in pleiotropic functions of insect vitellogenin is reviewed with *A. mellifera* as an example, including its physicochemical properties, molecular evolution, occurrence, regulation, pleiotropic effects and research methods.

Key words: Insect; *Apis mellifera*; vitellogenin; physical and chemical properties; occurrence; regulation; pleiotropic functions

卵黄原蛋白(vitellogenin, Vg)是一类大分子量的糖脂复合蛋白，广泛存在于卵生脊椎动物和非脊椎动物的血淋巴、肝脏(脂肪体)和卵中。绝大部分昆虫的 Vg 由雌性脂肪体在激素调控下合成，并转运到血淋巴，被卵母细胞通过 Vg 特异受体(vitellogenin-specific receptors, VgRs)调节的内吞作用所摄取，并最终转化为卵黄蛋白(vitellin, Vt)，为正在发育的胚胎提供氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、磷和硫等营养和功能性物质。作为卵黄发生的关键物质，Vg 的功能和调控机理一直是昆虫繁殖生理学最为活跃的领域之一。迄今为止至少有 28 种昆虫的 39 个 Vg 基因一级结构已经被分

基金项目：国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2009CB119200)
作者简介：严盈，男，1982 年 3 月生，重庆市南岸区人，博士研究生，研究方向为生物安全，E-mail: willeve_yy@yahoo.com.cn
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wanfh@caas.net.cn
收稿日期 Received: 2009-12-04；接受日期 Accepted: 2010-02-18

离和解析，Vg 氨基酸序列的某些特点如多聚丝氨酸区、GL/ICG 框和 DGXR 框等在昆虫中高度保守（董胜张等，2008；Tufail and Takeda，2008）。随着研究的深入，人们发现昆虫 Vg 不仅可作为胚胎的营养来源，而且还具有其他重要的生物学功能，因此又被称为“多效性蛋白”(pleiotropic protein)(Amdam *et al.*，2003a，2003b；Tufail and Takeda，2008)。

由于其特殊的社会习性、学习行为和经济价值，西方蜜蜂 *Apis mellifera*(本文简称蜜蜂)一直被人们视为最为重要的模式生物和实验生物之一(Seeley，1995；Amdam *et al.*，2009)。有意思的是，包括蜂王、工蜂和雄蜂在内的各个生物型(social caste)都来自相同的基因组，但它们的生活史却表现出极大的差异。蜂王每天可产 2 000 粒卵并可存活 1～3 年；工蜂基本不育，寒冷地区夏季工蜂的寿命只有 3～6 周；雄蜂与蜂王一样肩负着繁殖的任务，但寿命却接近于工蜂(Corona *et al.*，2007)。同时当蜂王存在时，蜂巢中的工蜂将依据年龄分担不同的工作［即年龄多态性(age polyethism)］，初羽化 1～2 周内工蜂担任看护工作，负责饲喂和抚育幼虫、蜂王、雄蜂及其他工蜂，这时称为看护蜂(nurse bees)，而看护蜂进入成虫期 15 d 后，其唾液腺开始退化，出现以花蜜、花粉和水为目标的采食行为，并且由蛋白取食(花粉)转向糖类取食(花蜜)(Bitondi and Simões，1994；1996)，这时称为采食蜂(forager)。看护蜂与采食蜂虽属于同一个亚型，但其生理特点、行为反应、寿命却明显不同。最新的研究显示，蜜蜂个体的这些差异均与体内的 Vg 有关(Guidugli *et al.*，2005a；Amdam and Seehuus，2006；Koywiwattrakul and Sittipraneed，2008；Amdam *et al.*，2009)。除此之外，Vg 还涉及到营养分配、气候适应、免疫机制等方面，因此蜜蜂是目前 Vg 多效性昆虫最为典型的代表(Engels *et al.*，1990；Amdam and Page，2007；Amdam *et al.*，2009)。随着全基因组测序的完成，蜜蜂的研究已经进入后基因组时代，如何利用基因组中隐藏的巨大信息去探索昆虫复杂习性下的各种调控途径和分子机制，已成为当今的研究热点(The Honeybee Genome Sequencing Consortium，2006)，而基因功能验证手段如 RNAi 技术的发展，更是极大地加快了功能基因特别是 Vg 基因的研究步伐。针对近年来蜜蜂 Vg 研究相继取得的重大突破，本文以蜜蜂为例介绍了 Vg 的理化性质与分子进化，发生与调控，功能多效性及其研究方法。

1 蜜蜂卵黄原蛋白的理化性质与分子进化

1.1 蛋白组成

蜜蜂 Vg 是分子量约为 180 kDa 的单体，平均密度 1.28 g/mL，主要包括 91% 蛋白、7% 脂类和 2% 糖(Wheeler and Kawooya，1990)。氨基酸序列中最丰富的氨基酸残基为天冬氨酸和甘氨酸，其次为亮氨酸、丝氨酸、赖氨酸和缬氨酸，脂类的主要成分为磷脂和甘油二酯，而糖类主要为甘露糖，以低聚甘露糖形式存在。这种结构是保持 Vg 活性所必需的，因为低聚甘露糖侧链在卵母细胞识别 Vg 中具有重要作用，其某些结构特征引导 Vg 进入细胞膜的被膜小泡或溶酶体，帮助 Vg 与 VgRs 结合，同时糖类还保证了 Vg 的稳定性以避免其在分泌前聚集(Wojchowski *et al.*，1986；Wheeler and Kawooya，1990)。

1.2 氨基酸序列

蜜蜂 Vg 基因（GenBank 登录号：AJ517411）全长 5 440 bp，开放阅读框编码 1 770 个氨基酸(Piulachs *et al.*，2003)。在推导的氨基酸序列中，前 16 个氨基酸残基组成了一段信号肽，在 372～381 残基位点包含一段丝氨酸聚集域，而多聚丝氨酸区一般是通过丝氨酸密码子经一系列扩增而形成的，通常位于进化速率较高的区域，与卵生脊椎动物卵黄高磷蛋白(phosvitin)区同源性较高，可能是某些激酶(如磷酸化激酶)的底物(Sappington and Raikhel，1998；董胜张，2008)。同时在 N 端还有一段由小分子氨基酸(3 个甘氨酸和 1 个脯氨酸)组成的序列，推测是 Vg 三级结构中的折叠部位，也可能是酶的作用位点。当 Vg 被转运至卵巢时，可通过该位点的断裂发生降解，为胚胎发育提供小的功能分子(Wheeler and Kawooya，1990)。在靠近 C 末端处(1 596～1 599 残基位点)有一段 GL/ICG 框，之后为连续 9 个半胱氨酸，该特征在所有膜翅目昆虫 Vg 序列中保守，同时在 GL/ICG 框上游约 18 个残基处还有一处 DGXR 框，该特征在所有昆虫(除马德拉蜚蠊 *Leucophaea maderae* 以外)的 Vg 序列中保守，这些序列特征的保守性在某种程度上也对应了昆虫 Vg 功能的保守性，即为胚胎提供营养物质(Lee *et al.*，2000；Tufail and Takeda，2008)。此外，生物信息学分析还表明该氨基酸序

列可能具备 4 个 RXXR/S 通用序列的剪切位点和 3 个糖基化位点(Piulachs *et al.*, 2003)。

1.3　分子进化

由于在蜜蜂社会形态建成中体现出的多效性，Vg 被认为是社会性特征蛋白之一(Amdam *et al.*, 2003a；Amdam and Page，2007)，针对 Vg 的分子进化分析也印证了这一点。从 Piulachs 等(2003)采用邻位相接法(Neighbor-Joining，NJ；PHYLIP，3.57c)、Tufail 和 Takeda (2008) 采用 NJ (MEGA3.1)、董胜张等(2008)采用 NJ 和最大简约法(Maximum parsimony，MP；MEGA3.1)构建的昆虫 Vg 系统发育树来看，蜜蜂都最先与同是社会性昆虫的红火蚁 *Solenopsis invicta* 聚类在一起，然后才与膜翅目的其他昆虫如菜叶蜂 *Athalia rosae*、丽蚜小蜂 *Encarsia formosa*、日本瘤姬蜂 *Pimpla nipponica*、蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* 等聚类。因此不同算法［独立元素法(discrete character methods)：NJ；距离依靠法(distance method)：MP］和不同软件(PHYLIP 和 MEGA)的分析结果都表明，社会性膜翅目昆虫 Vg 氨基酸序列在一定程度上已经进化出独立于其他膜翅目昆虫的特点，而这些结构特点很可能对应了其独特的社会性功能。另一方面，作为昆虫的祖先蛋白之一，Vg 的进化分析结果与昆虫传统的分类地位比较接近，并且在目与目之间表现出较高的保守性，因此 Vg 对现代昆虫分类学具有重要的参考价值(Tufail and Takeda，2008；董胜张等，2008)。

2　蜜蜂卵黄原蛋白的发生与调控

2.1　发生规律

Vg 主要在蜜蜂的腹、胸和头部的脂肪体中表达，随后被分泌到血淋巴。蜂王在羽化前 60 h 即开始合成 Vg，进入成虫期后 Vg 会迅速在血淋巴积累，3 d 以内就会达到血淋巴蛋白含量的 70% (Barchuk *et al.*, 2002)。在整个成虫期，蜂王都会维持较高的 Vg 合成水平来满足其繁殖的需要，但直到交配后其血淋巴的 Vg 才转运至卵巢(Engels，1972)；如果蜂王的求偶飞行(mating flights)或产卵行为被打断，Vg 含量将持续增加至血淋巴蛋白含量的 90% (Engels，1974)。不育工蜂合成 Vg 的时间比蜂王稍晚，大约在羽化前 10 h (Engels *et al.*,1990)，羽化后 24 h 内即可在脂肪体内检测出 Vg 基因的 mRNA(Amdam *et al.*, 2003b)，但不能在血淋巴中检测出 Vg，此后其血淋巴 Vg 含量持续上升但浓度显著低于蜂王(Barchuk *et al.*, 2002)。工蜂在进入看护期后，Vg 合成将经历一个高峰，其含量增高至血淋巴蛋白总量的 40%，在这个时期工蜂 Vg 的合成量与蜂王每天产 30 ~ 100 粒卵所需要的 Vg 含量相当(Engels and Fahrenhorst，1974；Fluri *et al.*, 1982；Engels *et al.*, 1990)，但同一时期工蜂体内的 Vg 含量却会出现较大的波动，这可能是由于不同蜜蜂个体对 Vg 的代谢速率不同所造成的(Amdam and Omholt，2002)，同时营养状况也可能影响个体间 Vg 含量的差异，因为蜜蜂 Vg 的合成与蛋白质食物的摄取直接相关(Bitondi and Simões，1996)。雄蜂的血淋巴也存在 Vg(Trenczek *et al.*, 1989；Barchuk *et al.*, 2002)，主要在羽化初期表达(Piulachs *et al.*, 2003)。有学者认为雄蜂合成 Vg 可能与膜翅目中单双倍体性别决定机制相关，因为性别特异位点(sex specific locus)的缺失会使雄性表现出部分雌性特征，但有的昆虫如半翅目的长红锥蝽 *Rhodnius prolixus* 并不存在单双倍体性别决定机制，其雄虫也含有 Vg (Valle *et al.*, 1987)。同时在膜翅目内，Vg 在非社会型昆虫的雄虫中并不表达，例如菜叶蜂(Kageyama *et al.*, 1994)和丽蝇蛹集金小蜂(Nose *et al.*, 1997)，表明 Vg 基因在雄性蜜蜂中的表达可能与其社会生物学相关。此外，昆虫 Vg 能够参与到糖、脂质、磷酸盐、维生素和激素的运输(Chen *et al.*, 1997；Sappington and Raikhel，1998)，因此雄蜂 Vg 可能具有类似的功能。

2.2　调控机理

2.2.1　保幼激素对蜜蜂 Vg 的调控：对多数社会性膜翅目昆虫而言，Vg 的合成与吸收都受到保幼激素(juvenile hormone，JH)的调控(Raikhel *et al.*, 2005)，而蜂王只有在蛹后期才在 JH 的作用下启动 Vg 的转录(Barchuk *et al.*, 2002)，成虫 Vg 的合成则独立于 JH(Engels *et al.*, 1990；Hartfelder and Engels，1998)；低剂量的 JH 能够使工蜂的 Vg 含量增加，而高剂量的 JH 及其类似物却会抑制 Vg 的合成(Rutz *et al.*, 1976；Engels *et al.*, 1990；Pinto *et al.*, 2000)。这些特殊的调控关系也从另一个层面表明蜜蜂 Vg 已经进化出除繁殖以外的其他功能(Guidugli *et al.*, 2005a，2005b)。自然状况下，蜂王在蛹期的 JH 含量要超过工蜂，其 Vg 的合成时间也比工蜂早，同时喷施 JH 可以使蜂王和工蜂 Vg 的合成时间提前，因此 JH 在蛹期的促进

作用是 Vg 合成的主要调控机制之一，这种正调控机制主要在转录水平上发生作用(Barchuk *et al.*, 2002)。而高剂量的 JH 对工蜂 Vg 的抑制作用被认为是自然选择的结果，因为看护蜂常常需要孵育蜂巢中其他雌蜂的后代，在这个时期它们无法转运血淋巴中的蛋白而产卵，而 JH 对 Vg 的抑制可以降低资源的浪费(Guidugli *et al.*, 2005a)。

2.2.2 蜕皮激素对蜜蜂 Vg 的调控：在多种膜翅目昆虫中，蜕皮激素(ecdysone)的作用是启动 Vg 的合成(Wegener *et al.*, 2009)，但蜜蜂体内蜕皮激素对 Vg 的作用是不确定的。当蜂王和工蜂在蛹期刚开始合成 Vg 时，蜕皮激素的浓度非常低，注入蜕皮激素后可以降低 Vg 的合成速率(Barchuk *et al.*,2002)，因此高浓度的蜕皮激素可能抑制产卵。但 Robinson 等(1991)发现繁殖工蜂血淋巴内的蜕皮激素浓度低于蜂王而高于看护蜂，推断蜕皮激素含量与繁殖效率呈正相关；而 Hartfelder 等(2002)比较了繁殖工蜂和不育工蜂血淋巴蜕皮激素的浓度，发现两者并不存在显著差异，因此蜕皮激素对工蜂繁殖没有作用或作用很小。实际上，伴随着工蜂卵巢的发育，血淋巴的蜕皮激素浓度会突然增加，经历一个短暂峰值后下降(Wegener *et al.*, 2009)，并且蜂王会在卵巢发育的特定时间启动蜕皮激素调控基因的表达(Paul *et al.*, 2005; Takeuchi *et al.*, 2007)。这些研究都表明蜕皮激素很可能作为输送信号，指导 Vg 向卵巢的转运并最终成为卵黄蛋白。如果这种信号机制存在，那么蜕皮激素将直接参与工蜂之间的竞争，因为当缺失蜂王时，蜕皮激素可以促进 Vg 吸收从而使工蜂卵黄发生更早地启动，使其更有机会成为产卵者(egg-layers)(Wegener *et al.*, 2009)。

2.2.3 Vg 特异受体对蜜蜂 Vg 的调控：Vg 输送到卵巢的过程是由 VgRs 所调控的(Mann *et al.*, 1999)，研究 VgRs 是了解蜜蜂 Vg 调控途径的重要手段。目前 VgRs 基因已经在多种昆虫中被分离，如埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、红火蚁、美洲大蠊 *Periplaneta americana*、德国小蠊 *Blattella germanica*、马德拉蜚蠊等，这些 VgRs 都属于低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptors, LDLR)家族并严格地在卵巢表达(Guidugli *et al.*, 2008)。而在蜜蜂中，VgRs 既存在于蜂王的卵巢中，也存在于工蜂的下咽腺(hypopharyngeal glands)中(Amdam *et al.*, 2003a)。在蜂王体内，VgRs 基因首先在卵巢底部表达，也就是卵母细胞生成并由滋卵细胞围绕的部位(Tanaka and Hartfelder, 2004)，同时伴随着 Vg 向卵巢的转运，VgRs 基因的转录水平也将同时提高(Guidugli *et al.*, 2008)。因此 Vg 与 VgRs 的协同作用是蜂王卵黄发生的关键。

3 蜜蜂卵黄原蛋白功能多效性的 RNAi 研究方法

作为基因功能验证最常用的手段之一，RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术被大量应用于蜜蜂 Vg 功能多效性的研究，目前在昆虫中主要采用显微注射和人工饲喂两种方法来实现。

3.1 显微注射

蜜蜂的显微注射大多选择成虫。尽管 Beye 等(2002)曾报道对受精卵的 dsRNA 注射可以在胚胎发育期间抑制目标基因的表达，但总的来讲卵的 RNAi 沉默效率不如成虫，Amdam 等(2003b)发现仅有 15% 的卵在 *Vg* dsRNA 显微注射后 Vg 含量出现明显下降，而有 96% 成虫 15 d 后体内还存在注射的 *Vg* dsRNA 并且 RNAi 效应至少可以持续21 d。同时，显微注射本身会显著影响胚胎的发育(Amdam *et al.*, 2003b)，造成的组织损伤也将增大幼虫的死亡率(Aronstein and Saldivar, 2005)。蜜蜂的脂肪体由腹部体壁上的薄细胞层组成，因此成虫的显微注射常常选择在蜜蜂的腹部，即使在大剂量注射的情况下也不会伤害到虫体本身。Amdam 等(2003b)认为腹部显微注射可能只适合于进行脂肪体表达基因的 RNAi，但 Dzitoyeva 等(2001)发现对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 腹部进行显微注射不仅可以沉默 *lacZ* 基因在肠道、视叶(optic lobes)和触角神经叶(antennal lobes)中的表达，还可以抑制内生性基因 *GM06434* 在中枢神经系统中的转录。同时，由于脂肪体可以从血淋巴吸收降解有害的大分子，因此注入的 dsRNA 有可能通过脂肪体而作用于其他组织，即脂肪体将血淋巴中的 dsRNA 加工为小分子干扰 RNA(siRNA)或其他的小片段信号分子(Boutla *et al.*, 2002)后再输送到血淋巴，从而使干扰信号分子更加容易地到达其他目标组织，因此蜜蜂 RNAi 研究中采用腹部注射可能比针对目标组织注射更加有效。按照 Lepardi 等(2001)的“降解 PCR 机制”(degradative PCR mechanism)，siRNA 产生的 dsRNA 将向 5′端延伸，而如果 siRNA 来自 3′端，就有可能产生全长的

dsRNA。需要指出的是，工蜂对操作过程是极为敏感的，活动限制或其他的外在因素都能形成胁迫机制，从而抑制工蜂的基因表达、激素水平、行为以及存活率(Barron *et al.*，2007)。

3.2　人工饲喂

为了尽量避免操作过程对蜜蜂个体的影响，Nunes 和 Simões(2009)建立了一套人工饲喂的 RNAi 体系，通过向蜜蜂 2 龄幼虫饲喂 *Vg* dsRNA，可以使 7 日龄工蜂 Vg 基因的转录水平下降 90%，表明 dsRNA 片段可以穿过肠道的上皮细胞而进入血淋巴，由此输送到各个组织和器官，尤其是合成 Vg 的脂肪体。由于工蜂 Vg 在蛹期大部分时间都不表达，仅在羽化前几个小时开始转录(Barchuk *et al.*，2002；Piulachs *et al.*，2003；Guidugli *et al.*，2005b)，表明 dsRNA 能够独立于目标基因的状态而保存在组织中，一旦 Vg 基因开始转录，脂肪体的 dsRNA 就能被激活从而引发沉默效应。同时，饲喂 dsRNA 工蜂和对照工蜂在体重上没有显著差异，表明人工饲喂的方法能够避免外部干扰和胁迫，尽可能地减少了实验操作的影响，使蜜蜂可以在自然的条件下完成发育。需要指出的是，该体系中 dsRNA 饲喂的剂量为 0.5 μg，比显著注射采用的剂量低 10 ~ 20 倍(Amdam *et al.*，2003b；Guidugli *et al.*，2005a；Nelson *et al.*，2007)，此时约有 60% 的个体能够自然发育至成虫；但当增加剂量至 3 μg 时，所有幼虫都无法完成发育。因此 dsRNA 的剂量是人工饲喂 RNAi 体系中一个必须考虑的因素。

4　蜜蜂卵黄原蛋白的功能多效性

4.1　气候适应

蜜蜂原产于非洲热带地区，约 180 万到 1 万年前传至欧洲北部(Amdam *et al.*，2005b)，经过对四季明显的气候环境长时间适应，其欧洲种群的寿命出现分化，从春季到夏季中旬，工蜂的平均寿命为 25 ~ 35 d，而在冬季工蜂的平局寿命可达 6 ~ 8 个月，因此欧洲种群工蜂又被分为短寿命夏蜂和长寿命冬蜂(Fluri *et al.*，1982)，而长寿命冬蜂一个显著特征就是其血淋巴具有高浓度的 Vg(Fluri *et al.*，1977，1982；Amdam *et al.*，2004a，2004b)。Amdam 等(2005b)比较了欧洲冬蜂和非洲种群体内的 Vg 含量，发现至少在 5 ~ 30 日龄内，欧洲冬蜂体内 Vg 含量都要显著大于非洲蜜蜂，同时非洲蜜蜂 Vg 含量在 12 日龄时达到峰值后迅速下降，而欧洲冬蜂 Vg 含量却能够在 12 ~ 30 日龄保持较高的水平，进一步确认 Vg 帮助了欧洲种群对低温环境的适应。自我平衡(homeostatic regulation)被认为是蜜蜂动态调控 Vg 最常见的生理机制(Amdam and Omholt，2002)，即当血淋巴 Vg 含量超过了一个阈值，Vg 的合成速率就会降低。Amdam 等(2005b)的结果表明经过长时间的进化，欧洲种群和非洲种群的自我平衡机制已经出现分化，为了维持高水平的 Vg 含量，欧洲种群的 Vg 合成速率将不受特定阈值的影响，以实现对低温气候的适应。

4.2　生殖反应

4.2.1　激活卵巢：由于若虫期高浓度的 JH(Rachinsky *et al.*，1990)和羽化初期高浓度的 Vg(Barchuk *et al.*，2002)，使得蜂王的卵巢能够被最大程度地激活，单个蜂王的卵巢可包含 180 根卵巢管，因此蜂王的日产卵量可以超过 1 000 粒。而工蜂具有非常细小的卵巢，每个卵巢含有 2 ~ 12 个卵巢管，一般并不执行繁殖功能。而如果蜂巢中没有蜂王，某些年幼工蜂的 Vg 含量会急剧上升，卵巢也将表现出活性。Koywiwattrakul 等(2005)选择了 8 个与卵巢发育相关的基因，通过实时定量 PCR(quantitative real-time PCR)分析发现，在蜂王缺失的情况下，卵巢激活工蜂中 Vg 和转铁蛋白(transferrin，trf)基因的表达量显著大于卵巢未激活的工蜂，而其他 6 个基因则没有差异。进一步的，Vg 基因的表达量是卵巢未激活工蜂的 4 倍(Koywiwattrakul *et al.*，2005)，是蜂王存在情况下卵巢未发育工蜂的 12 倍(Koywiwattrakul and Sittipraneed，2008)。Vg 和 trf 表达量的上调将通过一系列下游反应使卵巢活化，刺激工蜂的产卵行为。因此，Vg 可以作为专门的参数来衡量雌蜂的生育力(Engels，1974；Engels and Imperatriz-Fonseca，1990)。

4.2.2　生殖竞争：在全球范围内特别是南北美洲，非洲蜜蜂的扩散能力要超过欧洲蜜蜂，其中一个主要原因就是在缺失蜂王的情况下，非洲工蜂开始合成 Vg 所需的时间不仅比欧洲工蜂更短，合成 Vg 的量也更多，因此可以更快更多地产卵(Zillikens *et al.*，1998)。工蜂的繁殖使雄蜂数量增多，而在混合种群中非洲雄蜂是非常有力的交配竞争者(Martinho and Goncalves，1980)，因此工蜂在 Vg 水平上对蜂王缺失的快速反应能力加

速了非洲蜜蜂对其他种群非洲化的进程(Zillikens *et al.*, 1998)。

4.3 行为构建

4.3.1 行为反应：到目前为止，共发现了 3 个基因可以调控蜜蜂的采蜜行为，分别是 *foraging* (*Amfor*)，*malvolio* (*Amvl*)和 *Vg*，其中 *Amfor* 调节工蜂的趋光性，*Amvl* 调节工蜂的蔗糖反应，而采用 *Vg* RNAi 后可以使工蜂的采蜜行为提前约 3 ~ 4 d (Amdam *et al.*, 2007)，表明 *Vg* 具有保持蜜蜂处于看护阶段(nurse stage)的功能(Denison and Raymond-Delpech, 2008)。Schulz 等(1998)发现当蜂巢缺乏食物时会催发工蜂的采蜜行为，而 Toth 和 Robinson(2005)进一步确定蜜蜂体内的营养物质如腹部脂质和 Vg 的减少是引发这种行为转换的主要原因，而沉默 Vg 基因后将增大工蜂的采蜜量(Nelson *et al.*, 2007)。有意思的是，Amdam 等(2006b)同样采用 *Vg* RNAi 后能增加 7 日龄工蜂对蔗糖的反应。而已有的研究表明，如果 7 日龄工蜂具有较高的蔗糖反应，那么它的首选目标应该是花粉而不是花蜜(Pankiw and Page, 2000)。这两个用同样方法得到的结果看似矛盾，实际上可以通过发育和激素解释：在蜜蜂发育早期，其血淋巴高浓度的 Vg 决定了工蜂对花粉的高采集量(Amdam *et al.*, 2004a)，因此负调控 Vg 后将减少工蜂对花粉的采集，相对地增加花蜜的采集量；与此同时，蜜蜂体内的 JH 与味觉反应(Pankiw and Page, 2003)和花粉采集(Schulz *et al.*, 2004)直接相关，负调控 Vg 可以使 JH 增加(Guidugli *et al.*, 2005a)，由此增强了对花粉的反应。有研究认为 JH 可能增加了章鱼胺(octopamine)的含量，这种物质通常存在于工蜂的触角神经叶，由此刺激了蔗糖反应和采食行为(Schulz *et al.*, 2002)。需要指出的是，自然条件下工蜂体内的 Vg 含量本身就会在一定范围内发生波动，而这种波动对味觉反应是没有影响的(Amdam and Omholt, 2002, 2003)，并且 Vg 含量的改变速率比 Vg 含量的高低更能决定工蜂出现采蜜行为的年龄(Amdam *et al.*, 2007)，因此工蜂的味觉反应并不是由 Vg 所直接调控。换句话说，Vg 的波动只有达到一定程度并持续一段时间，才能通过一系列下游反应对味觉产生影响。

4.3.2 交互抑制假说(double repressor hypothesis)：基于多个模型与实验证据，Amdam 和 Omholt (2003)提出了交互抑制假说来描述工蜂行为构建中 Vg 与 JH 的关键作用，以及两者相互抑制的动态关系。喷施 JH 及其类似物可以增加工蜂对蔗糖的反应(Pankiw and Page, 2003)，同时降低 Vg 的合成速率(Pinto *et al.*, 2000)；而 RNAi 实验证明了当初羽化成虫 Vg 基因被抑制后，JH 的浓度将稳定地上升(Guidugli *et al.*, 2005a)，特别地，处理组和对照组的 JH 水平与采食蜂(Huang and Robinson, 1995)和看护蜂(Huang *et al.*, 1994)的 JH 水平接近。因此 Vg RNAi 结果完全符合"交互抑制假说"，并且可能恰好真实反映了看护蜂向采食蜂转换过程中内分泌的动态变化(Huang *et al.*, 1994; Jassim *et al.*, 2000)。目前 Vg 与 JH 的交互抑制机制尚不清楚，但咽侧体神经肽(allatoregulatory peptides)是可能的原因之一(Rachinsky and Feldlaufer, 2000)。动物的内分泌系统对胞间的锌离子浓度是高度敏感的(Baraldi *et al.*, 1986)，而 Vg 是蜜蜂血淋巴中锌离子的主要载体，由于采食蜂血浆中的锌离子浓度要显著低于看护蜂(Amdam *et al.*, 2004a)，因此 Vg 有可能是通过锌离子浓度来作用 JH。

4.3.3 交互抑制假说的社会生物学意义：基于交互抑制假说理论，工蜂劳动力分化可以分为"三步骤"。首先，伴随着年幼工蜂的成熟，逐渐上升的 Vg 浓度能够阻止它们采蜜飞行的启动，同时在这个阶段 JH 及类固醇仅有很小的峰值(Jassim *et al.*, 2000; Hartfelder *et al.*, 2002)，而这很可能恰恰促进了初羽化蜜蜂的成熟，特别是飞行器官的发育(Fielding *et al.*, 1980; Harrison and Fewell, 2002; Roberts and Elekonich, 2005; Schippers *et al.*, 2006)。第二个阶段包含了整个巢蜂期(hive bee stage)，该阶段的持续时间具有很强的可塑性，同时伴随着 Vg 浓度的上升和 JH 合成的抑制。最后，当这种平衡被 Vg 的负调控打破后(Guidugli *et al.*, 2005a)，JH 浓度将平稳地上升，同时看护蜂开始向采食蜂转换(Huang and Robinson, 1995; Fahrbach and Robinson, 1996; Robinson and Huang, 1998)，上升的 JH 浓度将抑制 Vg 的合成，从而确保工蜂一直(可逆转的)处于采食状态。进一步地，"交互抑制假说"表明一个蜂巢中采食蜂的数量是被精确地调控的，采食蜂的死亡数量与补充数量呈现出 1∶1 的关系(Huang and Robinson, 1995)。在选择压力和竞争关系的作用下，蜂巢必须维持采食、看护与繁殖之间的平衡，过少或过多的采食蜂都将打破这种平衡，使看护和繁殖无法有序进行。因此在咽侧体神经肽中枢神经系统

(allatoregulatory central nervous system)的作用下，Vg 与 JH 的交互抑制严格地控制了看护蜂向采食蜂的转换(Amdam and Omholt，2003)。

4.4　延长寿命

4.4.1　Vg 与寿命的关系：对多数动物而言，寿命往往与繁殖力呈负相关，但蜜蜂的蜂王却兼具有长寿命和高繁殖力，而由相同基因组编码的工蜂寿命则要短得多且基本不育。由于蜂王体内的 Vg 浓度要显著大于工蜂(Barchuk *et al.*，2002)，同时巢蜂、长寿命冬蜂血淋巴的 Vg 浓度也都分别大于采食蜂、短寿命夏蜂(Fluri *et al.*，1977，1982；Amdam *et al.*，2004b)，因此普遍认为蜜蜂 Vg 含量与寿命呈正相关(Omholt and Amdam，2004；Seehuus *et al.*，2006；Amdam and Seehuus，2006；Corona *et al.*，2007)。蜂王腹部的 Vg 在羽化初期达到高峰后逐步降低，而头和胸的 Vg 转录水平则持续升高并最终占据整个虫体 Vg 表达库的绝大部分，这种交互的动态趋势表明 Vg 在蜂王的体内不断循环转移并对寿命产生影响(Corona *et al.*，2007)，因为 Vg 在蜜蜂头部脂肪细胞中的表达量是很高的，而在果蝇中此类细胞对寿命的调控具有关键作用(Hwangbo *et al.*，2004)。*Vg* RNAi 也证明当 Vg 含量减少后，能加速看护蜂向采食蜂的转换，同时伴随寿命的缩短(Nelson *et al.*，2007)。

4.4.2　作用机理：在脊椎和无脊椎动物中，胰岛素生长因子-1 信号反应(Insulin-IGF-1 signaling，IIS)是控制寿命、繁殖力和其他重要生理过程的主要途径，负调控秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 和果蝇的 IIS 会延长寿命并降低繁殖力(Finch and Ruvkun，2001)。蜜蜂类胰岛素肽基因(insulin-like peptide，*AmILP*)和胰岛素受体基因(insulin receptor，*AmInR*)是 IIS 途径中的关键基因。与工蜂相比，*AmILP-1*，*AmInR-1*，和 *AmInR-2* 在蜂王体内的转录水平都很低，喷施 JH 在减少 Vg 含量的同时可以上调 *AmILP-1*，而 *Vg* RNAi 和饥饿也可以上调 *AmILP-1* 和 *AmILP-2* (Corona *et al.*，2007)，因此低浓度的 Vg 有可能增强了 IIS 途径从而缩短寿命，反之亦然。进一步的研究发现工蜂 Vg 具有免疫机制和抗氧化作用，Seehuus 等认为该功能与其携带锌的能力有关，因为 JH 上升在促进看护蜂向采食蜂转换的同时也降低了 Vg 的含量，造成采食蜂体内的锌离子浓度也随之下降，这样一来便加速了血细胞的凋亡(Amdam *et al.*，2005a；Amdam and Seehuus，2006；Seehuus *et al.*，2006)。由于血细胞具有重要的免疫功能，因此 Vg 含量与免疫机制是呈正相关的，换句话说，社会型昆虫的免疫机制需要花费大量能量(Moret and Schmid-Hempel，2000)，而免疫功能的低下又进一步导致营养物质的流失，从而使采食蜂寿命缩短。这种情况并不仅限于蜜蜂，在收获切叶蚁 *Pogonomyrmex owyheei* 中，工蚁一旦开始采食则立即表现出明显的衰老(Brian，1983)。另一方面，Corona 等(2007)认为 Vg 的抗氧化作用也可能与其携带的铁相关，该金属离子可以通过芬顿反应(Fenton reaction)摧毁高活性的羟自由基。同时，蜜蜂缺乏编码胞间过氧化物酶的基因(Corona and Robinson，2006)，并且当胞间抗氧化相关基因过表达时，蜂王的寿命并不会延长(Corona *et al.*，2005)，因此对蜜蜂而言，Vg 可能在一定程度上替代了这些在其他昆虫体内起作用的抗氧化机制。其他生物如秀丽隐杆线虫(Nakamura *et al.*，1999)和鳗鲡 *Anguilla japonica*(Ando and Yanagida，1999)也发现了 Vg 的抗氧化功能，但在这些物种中 Vg 与寿命并没有直接关系。

4.4.3　循环反馈机制(feedback loop mechanism)：Corona 等(2007)在“交互抑制假说”的基础上提出了“循环反馈机制”，来解释蜜蜂体内 Vg，JH 和 IIS 特殊的互作模式及其对寿命的影响(图 1)。对短寿命的工蜂而言，低营养水平上调了 IIS，类胰岛素肽(insulin-like peptides，ILPs)结合在类胰岛素受体(insulin-like receptors，InR)上，通过下游的激酶发出信号，使 FOXO 蛋白(IIS 途径中关键的转录调节因子)磷酸化并进入到细胞质，此时 FOXO 蛋白不会抑制 JH 的合成，于是高浓度的 JH 削弱了卵黄生成作用，使 Vg 浓度下降，从而通过循环反馈机制刺激胰岛素的分泌。而长寿命的蜂王则处于相反的情况，因为高营养水平降低了 IIS 的活性，使 FOXO 蛋白向细胞核移动，导致 JH 的下降和 Vg 的上升。如同果蝇和秀丽线虫一样，Vg 通过 FOXO 蛋白介导的途径增强了其抗氧化作用，从而使蜂王寿命延长。在这个模型中，Vg 扮演了信号分子的角色，因为它介导了 JH 对 IIS 的调控作用。该机制不仅可以说明蜂王与工蜂寿命的差异，也可解释不同类型的工蜂(巢蜂和采食蜂，长寿命冬蜂和短寿命夏蜂)之间寿命的差异。

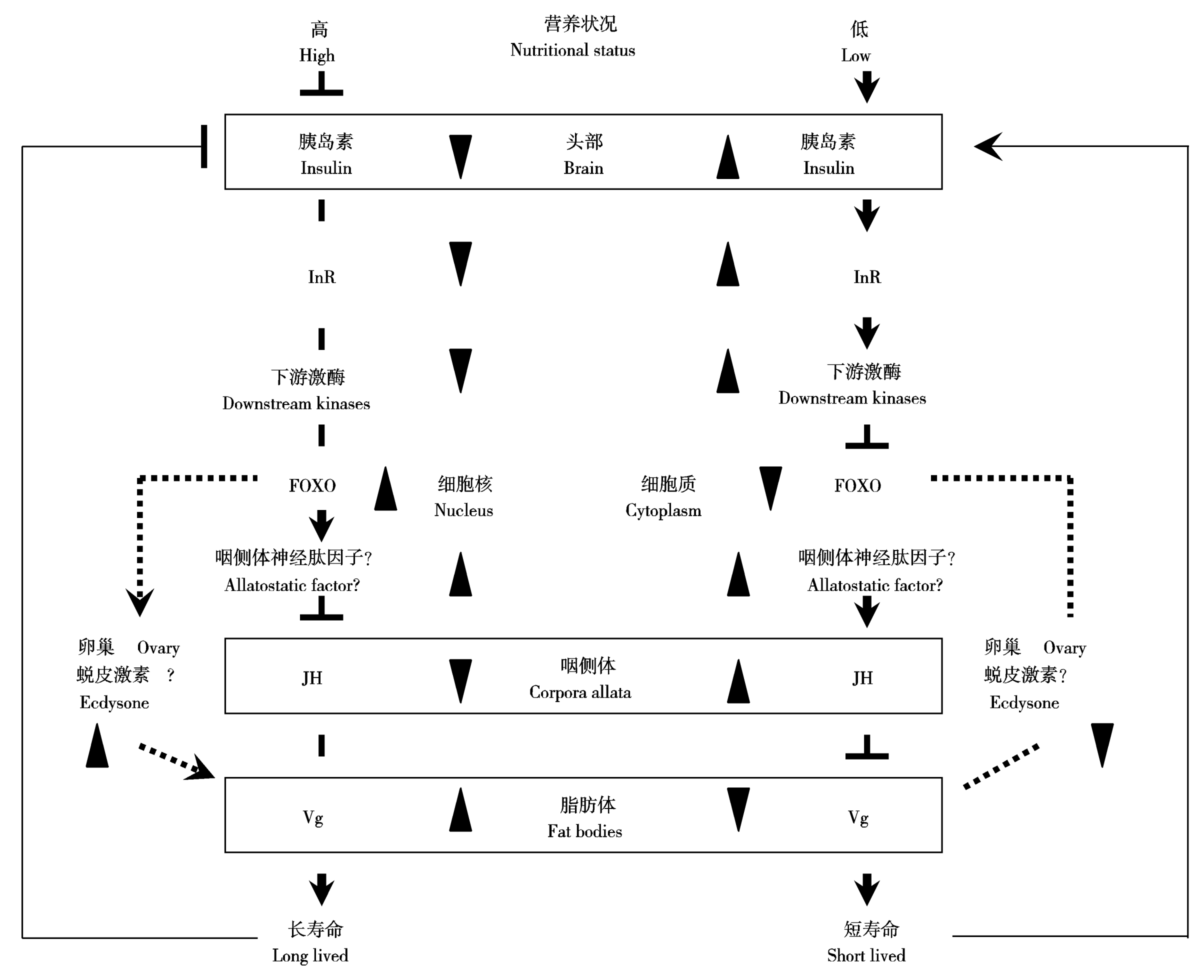


图 1　蜜蜂体内 Vg，JH 和 IIS 的互作模式及其对寿命的影响(引自 Corona *et al*., 2007)

Fig. 1　Model to explain how Vg, JH, and IIS interact to regulate longevity in the honey bee (Adapted from Corona *et al*., 2007)

4.5　转化食物

4.5.1　Vg 转化蛋白胨机制(vitellogenin-to-jelly mechanism, VTJ mechanism)：对大多数蜜蜂种类而言，雌性幼虫都具备成为蜂王的潜力，也就是说，在幼虫期蜂王与工蜂是等同的，而幼虫是否能最终发育为蜂王取决于其饲喂的时间和食物种类。早期研究认为 Vg 并不存在于看护蜂(nurse bees)饲喂幼虫的食物中(Rutz and Lüscher, 1974)，尽管当时在其下咽腺(hypopharyngeal gland, HPG)的匀浆中检测出了少量的 Vg，但研究人员认为这些 Vg 可能是污染带入的，HPG 并不能产生。从进化的角度来看，如果 Vg 的高合成特性并不是经过自然选择获得，那么突变和基因漂移就会使该性状在看护蜂种群内或种群间产生巨大的变异。然而，Vg 的高合成特性在不同种群的看护蜂中是非常保守的，甚至被认为是定义“看护蜂”的关键因子(Engels, 1974；Engels and Fahrenhorst, 1974；Fluri *et al*., 1982；Engels *et al*., 1990)，表明其花费如此多能量合成的 Vg 必然具有某种特定的生物学功能。同时 Amdam 和 Omholt(2002)采用数据模型分析了蜜蜂不同社会组织类型中单个个体在特定分工下 Vg 的动态变化，结果也显示 Vg 很可能是幼虫食物的主要来源之一。同位素示踪实验证实了蜜蜂 Vg 存在于饲喂的食物中，Amdam 等(2003a)将^{14}C 标记的 Vg 注入到看护蜂的血淋巴后，在其 HPG 产生的蛋白胨中及饲喂的幼虫、工蜂和蜂王体内都能检测出被标记的 Vg，同时在看护蜂的 HPG 膜上还可以检测出 Vg 及其受体蛋白。这些都表明 Vg 是参与合成蛋白胨的主要成分之一，由此形成了蜜蜂的 Vg 转化蛋白胨机制。

4.5.2　VTJ 机制的作用机理：工蜂的 HPG 活性和 Vg 合成量都是由脑咽侧体(corpora allata brain complex)所调控的(Engels, 1974)。对蜂王和繁殖工蜂而言，Vg 主要作为 Vt 的前体；对看护蜂而言，Vg 则转运至下咽腺以形成蛋白胨，工蜂注入^{14}C 标记的 Vg 12 h 后，标记蛋白总量将减少

14%～38%，并且只有少部分能够被转运到蛋白胨中，表明除了用于合成蛋白胨以外，Vg 还参与了其他生理过程，并且最终通过 $^{14}CO_2$ 的形式释放到体外（Amdam *et al.*，2003a；Seehuus *et al.*，2007）。无论蜂王存在（Wegener *et al.*，2009）还是缺失（Nakaoka *et al.*，2008），看护蜂的下咽腺和卵巢都表现出明显的协同发育，并且与 Vg 浓度保持一致，表明两者的发育在一定程度上受 Vg 所调控。另一方面，下咽腺能够产生多种消化酶，而食物的消化效率可以很大程度上决定卵的发育（Wheeler，1996）。同时 Vg 是蜜蜂血淋巴中主要的锌载体，而蛋白胨中也含有一定的锌，蜜蜂 Vg 可能像其他动物一样，通过受体的协同运输将锌导入卵母细胞膜（Falchuk and Montorzi，2001）。因此，下咽腺活性被认为是蜜蜂繁殖特性调控网络中的一环（Amdam *et al.*，2004a，2004b，2006；Nelson *et al.*，2007）。

4.5.3　VTJ 机制的社会生物学意义：在几种主要的社会型昆虫中，成虫都会花费大量的时间去精炼和浓缩食物（Brian，1983；Velthuis，1992）。这个过程很可能使看护型昆虫产生出专性进化（Brian，1983），而 VTJ 机制就可能是专性进化的结果，它在生理上使看护蜂更专注于看护的角色，从而使幼虫饲喂更加有效。而采食蜂会关闭 Vg 的合成（Pinto *et al.*，2000），使 HPG 不再分泌 Vg 而转为分泌一些花蜜相关的酶（Knecht and Kaatz，1990），从而减少了整个蜂巢中营养物质的损耗，并且避免了部分采食者在野外死亡造成的 Vg 损失（Amdam and Omholt，2002）。同时，既要执行集中的采食行为又要大量合成 Vg 并持续产生蛋白胨，这对多数工蜂是很困难的，因此蜜蜂有可能通过饲喂来选择适于吸收和转运 Vg 的幼虫，从而决定不同社会型的分化（Amdam *et al.*，2003a）。进一步地，如果在蜂王存在的情况下，个别工蜂所产的卵将被其他工蜂强制取食（Wenseleers and Ratnieks，2006），而取食的工蜂就有可能将 Vg 转化为蛋白胨饲喂蜂王，使其能够保持最大的产卵效率，以维持蜂王对生殖的垄断。此外，当蜂巢处于不利的环境条件时，产卵和孵化行为就会停止，而工蜂 Vg 含量则开始升高，例如在寒冷地区（Fluri *et al.*，1977，1982；Amdam *et al.*，2004a），这时 VTJ 机制表明 Vg 可以作为一种储存蛋白（storage protein），使看护蜂成为整个蜂巢的营养来源，使整个蜂巢在无法采集花粉的情况下也可以长时间存活，直到环境条件得到改善（Engels，1972；Amdam and Omholt，2002；Amdam *et al.*，2005b）。

5　小结和展望

昆虫 Vg 的功能多效性最早由 Engels 等（1990）提出，认为 Vg 有可能是一种储存蛋白，可以参与多种代谢过程并具有不同的生理功能。随后的一系列研究相继证明了这一观点，同时也解释了为什么高含量的 Vg 存在于不产卵的越冬蜂王（Engels *et al.*，1990）、越冬工蜂（Fluri *et al.*，1982）和雄蜂（Trenczek *et al.*，1989；Piulachs *et al.*，2003）体内，表明蜜蜂 Vg 已经由雌虫繁殖过程的一个下游因子上升为主要生命周期的调控子。需要指出的是，Vg 功能多效性涉及到复杂的代谢和调控网络，各种假说机制如“交互抑制假说”、“循环反馈机制”、“Vg 转化蛋白胨机制”都需要进一步的研究和验证。

JH 和 Vg 是雌性昆虫繁殖系统中最基本的两种成分，从目前的研究看，绝大部分昆虫都是通过 JH 来调控 Vg，而 Vg 对 JH 的反作用除蜜蜂以外仅在德国小蠊中有报道（Maestro *et al.*，1994）。Vg 和 JH 的“交互抑制”有可能是蜜蜂长期演化而来的一种专性机制，因为 *Vg* RNAi 实验表明 Vg 与 JH 共同调控了工蜂的采食行为，并且高、低浓度的 Vg 含量能够分别对应工蜂的采粉和采蜜行为（Guidugli *et al.*，2005a，2005b；Nelson *et al.*，2007）。通常认为味觉反应能够在很大程度上体现蜜蜂的感官能力，因为与低味觉反应的个体相比，对蔗糖敏感的工蜂对气味和光也更为敏感（Scheiner *et al.*，2004），并且采食蜂往往比看护蜂具有更敏锐的感官系统和更强的学习能力（Pankiw and Page，2000）。同时，采蜜的工蜂没有繁殖特征，其卵巢很小（Amdam *et al.*，2006a）且 Vg 含量极低（Page and Amdam，2007），而采粉的工蜂表现出更多的母性特征（Amdam *et al.*，2004a，2006a），因此这也更符合社会性昆虫劳动力分化是基于繁殖策略的理论（West-Eberhard，1996；Amdam *et al.*，2006a）。未来的研究可以进一步测定蜜蜂或其他昆虫发育历期特定时间点 Vg 和 JH 的相对含量，及其对应的行为反应、强度大小和母性发育，从而阐明其行为反应的调控路径和基于繁殖的进化特征。需要指出的是，*Vg* RNAi 不仅使 JH 的浓度升高，还增加了 JH 受体基因 *usp* 的转录水平

(*Guidugli et al.*, 2005a, 2005b), 但采用 RNAi 沉默 JH 酯酶编码基因后, JH 浓度会按照预期增加, 但 Vg 浓度却几乎不受影响(Makert *et al.*, 2008)。因此 Vg 和 JH 的上下游代谢途径及其相互关系相当复杂, 在"交互抑制"代谢网络的延伸研究中必须加以注意。

对动物而言, IIS 途径在营养、性成熟、生殖等过程中具有关键的调控作用(Nassel, 2002; Brandt *et al.*, 2005; Toth and Robinson, 2007), 而在"交互抑制假说"基础上提出的"循环反馈机制"则清楚地表明蜜蜂体内胰岛素和 IIS 信号途径的上游反应参与了 JH 的合成, 从而作用于 Vg 含量、卵巢成熟、寿命和虫体发育等(Page and Amdam, 2007)。蜜蜂的采食行为可能正是这些生理过程在 JH 和 Vg 的共同调控下发生了分化(Denison and Raymond-Delpech, 2008)。例如, Hunt 等(2007)利用数量性状位点(quantitative trait loci, QTL)技术在蜜蜂基因组上确定了一段与采粉行为相关的区域, 而这个区域上的多个基因均涉及到 IIS 途径和卵巢发育, 而大黄蜂 *Bombus terrestris* 胰岛素相关基因在具有母性看护行为的亚型和不具有母性看护行为的亚型中表达是截然不同的, 进一步表明了类似于 IIS 的繁殖相关的调控途径可能参与了社会型昆虫的亚型和劳动力的分化(Toth *et al.*, 2007)。Vg 的抗氧化功能和 IIS 途径的免疫作用将是未来的研究热点, 因为它们不仅涉及到蜜蜂本身的生活史特点, 而且对其他动物的疾病甚至人的癌症研究都具有重要意义(Brandt *et al.*, 2005; Amdam and Seehuus, 2006)。

"Vg 转化蛋白胨机制"充分说明了 Vg 作为存储蛋白在蜜蜂生存演化中的作用, 而这种作用在社会性昆虫中可能是保守的, 因为通常看护昆虫会在体内储存大量的营养物质(Brian, 1983), 而采食昆虫却不能, 例如收获切叶蚁 *P. owyheei* 和黄蜂 *Polybia occidentalis*, 工蜂或工蚁只会在营养储备耗尽的时候才开始采食(Brian, 1983; O'Donnell and Jeanne, 1995)。未来的的研究可能会更加关注蛋白胨中 Vg 的特定功能, 因为幼虫是否能最终发育为蜂王取决于饲喂的时间和食物种类。有的社会性昆虫, 如红蚁 *Myrmica* 和麦蜂 *Meliponini*, 其工蚁或工蜂所产的卵既可以作为幼虫的食物, 又可以饲喂蚁后或蜂王从而增加其产卵量(Brian, 1983; Engels and Imperatriz-Fonseca, 1990)。因此蜜蜂蛋白胨中的 Vg 可能与这些饲喂的卵具有相同的作用, 但涉及到的代谢途径和具体功能仍需进一步确定, 比如可以根据蛋白胨中功能已知的蛋白成分设置阴性和阳性对照, 通过蜜蜂不同亚型的发育状况来确定蛋白胨中 Vg 的功能。

除了社会性昆虫外, Vg 功能多效性研究对某些重大害虫危害机理和繁殖行为研究也具有重要的意义。例如, 稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel 侵入我国后全部营孤雌生殖并表现出典型的卵子发生-飞行共轭(翟保平等, 1999), 而 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* 可通过"非对称交配互作"来提高后代雌性比例并降低土著烟粉虱的后代雌性比例(Liu *et al.*, 2007); 同时蝗虫 *Romalea microptera* 还可以高度灵敏地针对食物来改变体内的 Vg 含量(Hatle *et al.*, 2006)。如果针对这些高表达 Vg 并具有复杂繁殖行为的害虫采用 *Vg* RNAi 技术, 将有可能为 Vg 功能多效性研究开辟新的内容, 同时有助于人们进一步理解 Vg 的功能、代谢、进化等科学问题。

参 考 文 献 (References)

Amdam GV, Aase ALTO, Seehuus SC, Fondrk MK, Norberg K, Hartfelder K, 2005a. Social reversal of immunosenescence in honey bee workers. *Exp. Gerontol.*, 40(12): 939-947.

Amdam GV, Csondes A, Fondrk MK, Page RE, 2006a. Complex social behaviour derived from maternal reproductive traits. *Nature*, 439: 76-78.

Amdam GV, Ihle KE, Page REJr, 2009. Regulation of worker honey bee (*Apis mellifera*) life histories by vitellogenin. *Hormones, Brain and Behavior*, 2(29): 1 003-1 025.

Amdam GV, Nilsen KA, Norberg K, Fondrk MK, Hartfelder K, 2007. Variation in endocrine signaling underlies variation in social life history. *Am. Nat.*, 170: 37-46.

Amdam GV, Norberg K, Fondrk MK, Page RE, 2004a. Reproductive ground plan may mediate colony-level selection effects on individual foraging behavior in honey bees. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 11 350-11 355.

Amdam GV, Norberg K, Hagen A, Omholt SW, 2003a. Social exploitation of vitellogenin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100: 1 799-1 802.

Amdam GV, Norberg K, Omholt SW, Kryger P, Lourenco AP, Bitondi MMG, Simões ZLP, 2005b. Higher vitellogenin concentrations in honey bee workers may be an adaptation to life in temperate climates. *Insectes Soc.*, 52: 316-319.

Amdam GV, Norberg K, Page JRE, Erber J, Scheiner R, 2006b. Downregulation of vitellogenin gene activity increases the gustatory responsiveness of honey bee workers (*Apis mellifera*). *Behav. Brain Res.*, 169: 201-205.

Amdam GV, Omholt SW, 2002. The regulatory anatomy of honeybee

lifespan. *J. Theor. Biol.*, 216: 209 – 228.

Amdam GV, Page RE, 2007. The making of a social insect: Developmental architectures of social design. *BioEssays*, 29: 334 – 343.

Amdam GV, Seehuus SC, 2006. Order, disorder, death: Lessons from a superorganism. *Adv. Cancer Res.*, 95: 31 – 60.

Amdam GV, Simões ZLP, Guidugli KR, Norberg K, Omholt SW, 2003b. Disruption of vitellogenin gene function in adult honeybees by intra-abdominal injection of double-stranded RNA. *BMC Biotechnol.*, 3: 1 – 8.

Amdam GV, Simões ZLP, Hagen A, Norberg K, Schrøder K, Mikkelsen ∅, Kirkwood TBL, Omholt SW, 2004b. Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Exp. Gerontol.*, 39: 767 – 773.

Ando S, Yanagida K, 1999. Susceptibility to oxidation of copper-induced plasma lipoproteins from Japanese eel: Protective effect of vitellogenin on the oxidation of very low density lipoprotein. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 123: 1 – 7.

Antonio DSM, Guidugli-Lazzarini KR, do Nascimento AM, Simões ZLP, Hartfelder K, 2008. RNAi-mediated silencing of vitellogenin gene function turns honeybee (*Apis mellifera*) workers into extremely precocious foragers. *Naturwissenschaften*, 95(10): 953 – 961.

Aronstein K, Saldivar E, 2005. Characterization of a honey bee Toll related receptor gene *Am18w* and its potential involvement in antimicrobial immune defense. *Apidologie*, 36: 3 – 14.

Baraldi M, Zanoli P, Benelli A, Sandrini M, Giberti A, Caselgrandi E, Tosi G, Preti C, 1986. Neurobehavioral, neuroendocrine and neurochemical effects of zinc supplementation in rats. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 203: 571 – 585.

Barchuk AR, Bitondi MMG, Simões ZLP, 2002. Effects of juvenile hormone and ecdysone on the timing of vitellogenin appearance in hemolymph of queen and worker pupae of *Apis mellifera*. *J. Insect Sci.*, 2(1): 9.

Barron AB, Maleszka J, Vander Meer RK, Robinson GE, Maleszka R, 2007. Comparing injection, feeding and topical application methods for treatment of honeybees with octopamine. *J. Insect Physiol.*, 53: 187 – 194.

Beye M, Haertel S, Hagen A, Hasselmann M, Omholt SW, 2002. Specific developmental gene silencing in the honey bee using a homeobox motif. *Insect Mol. Biol.*, 11: 527 – 532.

Bitondi MMG, Simões ZLP, 1994. Variation in the haemolymph protein composition of confined *Apis mellifera* and partial restoration of vitellogenin titre by juvenile hormone analogue treatment. *J. Hym. Res.*, 3: 107 – 117.

Bitondi MMG, Simões ZLP, 1996. The relationship between level of pollen in the diet, vitellogenin and juvenile hormone titres in Africanized *Apis mellifera* workers. *J. Apicult. Res.*, 35: 27 – 36.

Boutla AB, Kalantidis K, Tavernarakis N, Tsagris M, Tabler M, 2002. Induction of RNA interference in *Caenorhabditis elegans* by RNAs derived from plants exhibiting post-transcriptional gene silencing. *Nucleic Acids Research*, 30: 1 688 – 1 694.

Brandt BW, Zwaan BJ, Beekman M, Westendor PRGJ, Slagboom PE, 2005. Shuttling between species for pathways of lifespan regulation: a central role for the vitellogenin gene family? *Bioessays*, 27: 339 – 346.

Brian MW, 1983. Social Insects: Ecology and Behavioural Biology. Chapman and Hall, New York. 146 – 160.

Chen JS, Sappington W, Raikhel AS, 1997. Extensive sequence conservation among insect, nematode, and vertebrate vitellogenins reveals common ancestry. *J. Mol. Evol.*, 44: 440 – 451.

Corona M, Hughes KA, Weaver DB, Robinson GE, 2005. Gene expression patterns associated with queen honey bee longevity. *Mech. Ageing Dev.*, 126: 1 230 – 1 238.

Corona M, Robinson GE, 2006. Genes of the antioxidant system of the honey bee: Annotation and phylogeny. *Insect Mol. Biol.*, 15: 687 – 701.

Corona M, Velarde RA, Remolina S, Moran-Lauter A, Wang Y, Hughes KA, Robinson GE, 2007. Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 7 128 – 7 133.

Denison R, Raymond-Delpech V, 2008. Insights into the molecular basis of social behaviour from studies on the honeybee, *Apis mellifera*. *Invert. Neurosci.*, 8: 1 – 9.

Dong SZ, Ye GY, Liu CL, 2008. Research progress in molecular evolution of yolk proteins in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 51(11): 1 196 – 1 209. [董胜张，叶恭银，刘朝良，2008. 昆虫卵黄蛋白分子进化的研究进展. 昆虫学报，51(11): 1 196 – 1 209]

Dzitoyeva S, Dimitrijevic N, Manev H, 2001. Intra-abdominal injection of double-stranded RNA into anesthetized adult *Drosophila* trigger RNA interference in the central nervous system. *Molecular Psychiatry*, 6: 665 – 670.

Engels W, 1972. Quantitative Untersuchungen zum dotterprotein-haushalter honigbiene (*Apis mellifica*). *Wilhelm Roux Arch.*, 171: 55.

Engels W, 1974. Occurrence and significance of vitellogenins in female castes of social Hymenoptera. *Am. Zool.*, 14: 1 229 – 1 237.

Engels W, Fahrenhorst H, 1974. Alters-und kastenspezifische Veeränderungen ser Haemolymph-Protein-Spectren bei *Apis mellifera*. *Wilhelm Roux Arch.*, 174: 285 – 296.

Engels W, Imperatriz-Fonseca VL, 1990. Caste development, reproductive strategies, and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: Engels W ed. Social Insects, An Evolutionary Approach to Castes and Reproduction. Springer Verlag, Heidelberg. 167 – 230.

Engels W, Kaatz H, Zillikens A, Simões ZLP, Trube A, Braun R, Dittrich F, 1990. Honey bee reproduction: Vitellogenin and caste-specific regulation of fertility. In: Hoshi M, Yamashita O eds. Advances in Invertebrate Reproduction, Vol. 5. Elsevier, Amsterdam. 495 – 502.

Falchuk KH, Montorzi M, 2001. Zinc physiology and biochemistry inoocytes and embryos. *BioMetals*, 14: 385 – 395.

Finch CE, Ruvkun G, 2001. The genetics of aging. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2: 435 – 462.

Fischer P, Grozinger CM, 2008. Pheromonal regulation of starvation resistance in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 95(8): 723–729.

Fluri P, Lüscher M, Wille H, Gerig L, 1982. Changes in weight of the pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone and vitellogenin in worker honeybees. *J. Insect Physiol.*, 28: 61–68.

Fluri P, Wille H, Gerig L, Lüscher M, 1977. Juvenile hormone, vitellogenin and haemocyte composition in winter worker honeybees (*Apis mellifera*). *Experientia*, 33: 1 240–1 241.

Guidugli KR, Nascimento AM, Amdam GV, Barchuk AR, Omholt S, Simões ZLP, Hartfelder K, 2005a. Vitellogenin regulates hormonal dynamics in the worker caste of a eusocial insect. *FEBS Lett.*, 579: 4 961–4 965.

Guidugli KR, Nascimento AM, Donato Té, Piulachs MD, Hartfelder K, Bitondi MG, Simões ZLP, 2008. Expression analysis of putative vitellogenin and lipophorin receptors in honey bee (*Apis mellifera* L.) queens and workers. *J. Insect Physiol.*, 54: 1 138–1 147.

Guidugli KR, Piulachs MD, Bellés X, Lourenco AP, Simões ZLP, 2005b. Vitellogenin expression in queen ovaries and in larvae of both sexes of *Apis mellifera*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 59: 211–218.

Hartfelder K, Bitondi MMG, Santana WC, Simões ZLP, 2002. Ecdysteroid titer and reproduction in queens and workers of the honey bee and of a stingless bee: Loss of ecdysteroid function at increasing levels of sociality? *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 211–216.

Hartfelder K, Engels W, 1998. Social insect polymorphism: Hormonal regulation of plasticity in development and reproduction in the honeybee. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 40: 45–77.

Hatle JD, Waskey TJr, Juliano SA, 2006. Plasticity of grasshopper vitellogenin production in response to diet is primarily a result of changes in fat body mass. *J. Comp. Physiol. B*, 176: 27–34.

Huang ZY, Robinson GE, 1995. Seasonal changes in juvenile hormone titers and rates of biosynthesis in honey bees. *J. Comp. Physiol. B*, 165: 18–28.

Huang ZY, Robinson GE, Borst DW, 1994. Physiological correlates of division of labor among similarly aged honey bees. *J. Comp. Physiol. A*, 174: 731–739.

Hunt GJ, Amdam GV, Schlipalius D, Emore C, Sardesai N, Williams CE, Rueppell O, Guzmán-Novoa E, Arechavaleta-Velasco M, Chandra S, Fondrk MK, Beye M, Page REJr, 2007. Behavioral genomics of honeybee foraging and nest defense. *Naturwissenschaften*, 94: 247–267.

Hwangbo DS, Gershman B, Tu MP, Palmer M, Tatar M, 2004. *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body. *Nature*, 429: 562–566.

Jassim O, Huang ZY, Robinson GE, 2000. Juvenile hormone profiles of worker honey bees, *Apis mellifera*, during normal and accelerated behavioural development. *J. Insect Physiol.*, 46: 243–249.

Kageyama Y, Kinoshita T, Umesono Y, Hatakeyama M, Oishi K, 1994. Cloning of cDNA for vitellogenin of *Athalia rosae* (Hymenoptera) and characterization of the vitellogenin gene expression. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 24: 599–605.

Knecht D, Kaatz HH, 1990. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees. *Apidologie*, 21: 457–468.

Koywiwattrakul P, Sittipraneed S, 2008. Expression of vitellogenin and transferrin in activated ovaries of worker honey bees, *Apis mellifera*. *Biochem. Genet.*, 47(1/2): 19–26.

Lee JM, Hatakeyama M, Oishi K, 2000. A simple and rapid method for cloning insect vitellogenin cDNAs. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30: 189–194.

Lepardi C, Wei Q, Paterson BM, 2001. RNAi as random degradative PCR: siRNA primers convert mRNA into dsRNAs that are degraded to generate new siRNAs. *Cell*, 107: 297–307.

Liu SS, De Barro PJ, Xu J, Luan JB, Zang LS, Ruan YM, Wan FH, 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science*, 318: 1 769–1 772.

Maestro JL, Danés MD, Piulachs MD, Cassier P, Bellés X, 1994. Juvenile hormone inhibition in corpora allata from ovariectomized *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera, Blattellidae). *Physiol. Entomol.*, 19: 342–348.

Makert A, Nascimento AM, Bitondi MMG, Hartfelder K, Simões ZLP, 2008. Identification of a juvenile hormone esterase-like gene in the honey bee, *Apis mellifera* L. – Expression analysis and functional assays. *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.*, 150: 33–44.

Mann CJ, Anderson TA, Read J, Chester SA, Harrison GB, Kochl S, Ritchie PJ, Bradbury P, Hussain FS, Amey J, Vanloo B, Rosseneu M, Infante R, Hancock JM, Levitt DG, Banaszak LJ, Scott J, Shoulders CC, 1999. The structure of vitellogenin provides a molecular model for the assembly and secretion of atherogenic lipoproteins. *J. Mol. Biol.*, 285: 391–408.

Martinho MR, Goncalves LS, 1980. Valor competitivo de zangões filhos de rainhas e de operarias de *Apis mellifera ligustica* e *Apis mellifera adansonii* (Hymenoptera, Apidae). Anais do 5° Congresso de Apicultura. Vicosa, Brasil. 76–89.

Moret Y, Schmid-Hempel P, 2000. Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, 290: 1 166–1 168.

Nakamura A, Yasuda K, Adachi H, Sakurai Y, Ishii N, Goto S, 1999. Vitellogenin-6 is a major carbonylated protein in aged nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 264: 580–583.

Nakaoka T, Takeuchi H, Kubo T, 2008. Laying workers in queenless honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies have physiological states similar to that of nurse bees but opposite that of foragers. *J. Insect Physiol.*, 54: 806–812.

Nassel DR, 2002. Neuropeptides in the nervous system of *Drosophila* and other insects: Multiple roles as neuromodulators and neurohormones. *Prog. Neurobiol.*, 68: 1–84.

Nelson CM, Ihle KE, Fondrk MK, Page RE, Amdam GV, 2007. The gene vitellogenin has multiple coordinating effects on social organization. *PLoS Biol.*, 5: 673–677

Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S, von Heijne G, 1997. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. *Protein Eng.*, 10: 1 –6.

NoseY, Lee JM, Ueno T, Hatakeyamam M, Oishi K, 1997. Cloning of cDNA for vitellogenin of the parsfvoid wasp, *Pimpla nipponica* (Hymenoptera: Apocrita: Ichneumonidae): Vitellogen in primary structure and evolutionary considerations. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 1 047 –1 056.

Nunes FMF, Simões ZLP, 2009. A non-invasive method for silencing gene transcription in honeybees maintained under natural conditions. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39(2): 157 –160.

O'Donnell S, Jeanne RL, 1995. The roles of body size and dominance in division of labor among workers of the eusocial wasp *Polybia occidentalis* (Olivier) (Hymenoptera: Vespidae). *Experientia*, 51: 749 –752.

Omholt SW, Amdam GV, 2004. Epigenic regulation of aging in honeybee workers. *Sci. Aging Knowl. Environ.*, 26: 28.

Page RE, Amdam GV, 2007. The making of a social insect: Developmental architectures of social design. *Bioessays*, 29: 334 –343.

Pankiw T, Page RE, 2000. Response thresholds to sucrose predict foraging division of labor in honeybees. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 47: 265 –267.

Pankiw T, Page RE, 2003. Effect of pheromones, hormones, and handling on sucrose response thresholds of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J. Comp. Physiol. A*, 189: 675 –684.

Paul RK, Takeuchi H, Matsuo Y, Kubo T, 2005. Gene expression of ecdysteroidregulated gene E74 of the honeybee in ovary and brain. *Insect Mol. Biol.*, 14: 9 –15.

Pinto LZ, Bitondi MMG, Simões ZLP, 2000. Inhibition of vitellogenin synthesis in *Apis mellifera* workers by a juvenile hormone analogue, pyriproxyfen. *J. Insect Physiol.*, 46: 153 –160.

Piulachs MD, Guidugli KR, Barchuk AR, Cruz J, Simões ZLP, Belles X, 2003. The vitellogenin gene of the honey bee, *Apis mellifera*: Structural analysis of the cDNA and expression studies. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 459 –465.

Rachinsky A, Feldlaufer MF, 2000. Responsiveness of honey bee (*Apis mellifera* L.) corpora allata to allatoregulatory peptides from four insect species. *J. Insect Physiol.*, 46: 41 –46.

Rachinsky A, Strambi C, Strambi A, Hartfelder K, 1990. Caste and metamorphosis: Hemolymph titers of juvenile hormone and ecdysteroids in last instar honey bee larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 79: 31 –38.

Raikhel AS, Brown MR, Beléls X, 2005. Hormonal control of reproductive processes. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS eds. Comprehensive Molecular Insect Science, Vol. 3. Elsevier, Amsterdam. 433 –491.

Robinson GE, Strambi C, Strambi A, Feldlaufer MF, 1991. Comparison of juvenile hormone and ecdysteroid haemolymph titres in adult worker and queen honey bees (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.*, 37: 929 –935.

Rutz W, Gerig L, Wille H, Luscher M, 1976. The function of juvenile hormone in adult worker honeybees, *Apis mellifera. J. Insect Physiol.*, 22: 1 485 –1 491.

Rutz W, Lüscher M, 1974. The occurrence of vitellogenin in workers and queens of *Apis mellifica* and the possibility of its transmission to the queen. *J. Insect Physiol.*, 20: 897 –909.

Sappington TW, Raikhel AS, 1998. Molecular characteristics of insect vitellogenin and vitellogenin receptors. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28: 277 –300.

Scheiner R, Page RE, Erber J, 2004. Sucrose responsiveness and behavioral plasticity in honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 35: 133 –142.

Schulz DJ, Barron AB, Robinson GE, 2002. A role for octopamine in honeybee division of labor. *Brain Behav. Evol.*, 60: 350 –359.

Schulz DJ, Huang ZY, Robinson GE, 1998. Effects of colony food shortage on behavioral development in honey bees. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 42: 295 –303.

Schulz DJ, Pankiw T, Fondrk MK, Robinson GE, Page RE, 2004. Comparisons of juvenile hormone hemolymph and octopamine brain titers in honeybees (Hymenoptera: Apidae) selected for high and low pollen hoarding. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 97: 1 313 –1 319.

Seehuus SC, Norberg K, Gimsa U, Krekling T, Amdam GV, 2006. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 962 –967.

Seehuus SC, Norberg K, Krekling T, Fondrk K, Amdam GV, 2007. Immunogold localization of vitellogenin in the ovaries, hypopharyngeal glands and head fat bodies of honeybee workers, *Apis mellifera. J. Insect Sci.*, 7(52): 1 –14.

Seeley TD, 1995. The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies. Harvard University Press, Cambridge. 1 –68.

Takeuchi H, Paul R, Matsuzaka E, Kubo T, 2007. EcR-A expression in the brain and ovary of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Zoological Science*, 24: 596 –603.

Tanaka ED, Hartfelder K, 2004. The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Structure & Development*, 33: 431 –442.

The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera. Nature*, 443: 919 –920.

Toth AL, Robinson GE, 2005. Worker nutrition and division of labour in honeybees. *Anim. Behav.*, 69: 427 –435.

Toth AL, Robinson GE, 2007. Evo-devo and the evolution of social behavior. *Trends Genet.*, 23: 334 –341.

Toth AL, Varala K, Newman TC, Miguez FE, Hutchison SK, Willoughby DA, Simons JF, Egholm M, Hunt JH, Hudson ME, Robinson GE, 2007. Wasp gene expression supports an evolutionary link between maternal behavior and eusociality. *Science*, 318: 441 –444.

Trenczek T, Zillikens A, Engels W, 1989. Developmental patterns of vitellogenin haemolymph titre and rate of synthesis in adult drone honey bees (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.*, 35: 475 –481.

Tufail M, Takeda M, 2008. Molecular characteristics of insect

vitellogenins. *J. Insect Physiol.*, 54: 1 447 – 1 458.

Valle D, Lima Gomes JEP, Goldenberg S, Garcia ES, 1987. *Rhodnius prolixus* vitellogenesis: Dependence upon the blood source. *J. Insect Physiol.*, 33: 249 – 254.

Velthuis HHW, 1992. Pollen digestion and the evolution of sociality in bees. *Bee World*, 73: 77 – 89.

Wegener J, Huang ZY, Lorenz MW, Bienefeld K, 2009. Regulation of hypopharyngeal gland activity and oogenesis in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *J. Insect Physiol.*, 55: 716 – 725.

Wenseleers T, Ratnieks FL, 2006. Enforced altruism in insect societies. *Nature*, 444: 50.

West-Eberhard MJ, 1996. In: Turillazzi S, West-Eberhard MJ eds. Natural History and Evolution of Paper Wasp. Oxford University Press, New York. 290 – 317.

Wheeler D, 1996. The role of nourishment in oogenesis. *Annual Review of Entomology*, 41: 407 – 431.

Wheeler D, Kawooya JK, 1990. Purification and characterization of honey bee vitellogenin. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 14: 253 – 267.

Wojchowski DM, Parsons P, Nordin JH, Kunkel JG, 1986. Processing of provitellogenin in insect fat body: a role for high mannose oligosaccharides. *Developmental Biology*, 116: 422 – 430.

Zhai BP, Cheng JA, Huang EY, Shang HW, Zheng XH, Wu H, Lu XJ, 1999. The oogensis-flight syndrome of ricewater weevil, *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel. *Acta Ecologica Sinica*, 19(2): 242 – 249. [翟保平，程家安，黄恩友，商晗武，郑雪浩，吴建，吕旭剑，1999. 稻水象甲（*Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel）的卵子发生-飞行共轭. 生态学报，19(2): 242 – 249]

Zillikens A, Simões ZLP, Engels W, 1998. Higher fertility of queenless workers in the Africanized honey bee. *Insectes Soc.*, 45: 473 – 476.

（责任编辑：赵利辉）